

B11



⑯ BUNDESREPUBLIK

DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

# Offenlegungsschrift

⑯ DE 42 17 868 A 1

⑮ Int. Cl. 5:

G 01 N 21/03

B 01 L 7/00

G 01 K 13/00

G 05 D 23/19

DE 42 17 868 A 1

⑯ Aktenzeichen: P 42 17 868.1

⑯ Anmeldetag: 29. 5. 92

⑯ Offenlegungstag: 2. 12. 93

⑯ Anmelder:

Friedrich-Schiller-Universität Jena, 07743 Jena, DE

⑯ Erfinder:

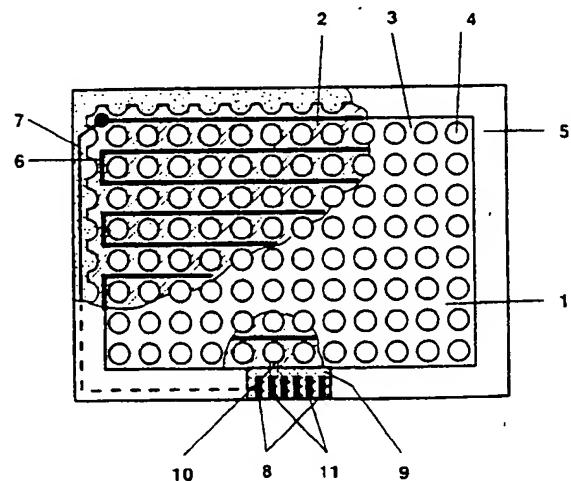
Horn, Anton, Prof. Dr., O-6901 Wöllnitz, DE;  
Schilling, Klaus, Dr., O-6532 Bad Klosterlausnitz, DE;  
Müller-Hipper, Reiner, O-6900 Jena, DE; Sammler,  
Günther, O-6900 Jena, DE

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑯ Temperierbare Multiküvette

⑯ Die Erfindung betrifft eine temperierbare Multiküvette zur Untersuchung von flüssigem Untersuchungsgut mit optischen Methoden. Sie besteht aus einem mit durchgängigen Löchern (4) versehenen stabilen Träger (1) aus gut wärmeleitendem Material mit integrierter Heizung (2), umgeben von einem Rahmen aus gut wärmedämmendem Material (5). Wechselbare Einweg-Mikroküvetten (12) aus inertem optischen Material liegen den Wandungen der Löcher (4) formschlüssig an.

Das vorgestellte Ausführungsbeispiel erschließt dem bekannten Mikrotiterplattensystem das Anwendungsgebiet der kinetischen enzymatischen Analysen bei definierter Temperatur.



DE 42 17 868 A 1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft eine temperierbare Multiküvette, insbesondere eine heizbare Mikroküvettenanordnung zur Untersuchung von flüssigem Untersuchungsgut mit optischen Methoden gemäß dem Oberbegriff des Anspruchs 1, die das in medizinischen, biologischen, biotechnologischen und umweltanalytischen Laboratorien eingesetzte Mikrotiterplattensystem ergänzt. Mikrotiterplatten werden in den genannten Bereichen, insbesondere wegen ihrer hohen Praktikabilität in Kombination mit geeigneten Auswertegeräten wie Photometern, Fluorimetern oder Luminometern eingesetzt. Für viele Anwendungsfälle ist eine Temperaturkontrolle der Probenflüssigkeit nicht nur während einer längeren Inkubationszeit, was sich durch Einlegen in spezielle Brutschränke problemlos realisieren lässt, sondern auch während der Messung unerlässlich. In Abhängigkeit vom konkreten Anwendungsfall unterscheiden sich die Anforderungen bezüglich der Geschwindigkeit des Aufheizens auf die Zieltemperatur und deren zeitliche und räumliche Konstanz. Eine sehr hohe Präzision und Richtigkeit ( $< 0,1^\circ\text{C}$ ) wird bei der Messung kinetischer enzymatischer Analysen gefordert.

Die einfache Nutzung temperierter Luft als wärmeübertragendes Medium im Probenraum des Meßgerätes, ein Prinzip das sich bei Mikroküvetten, die auf einer Kreisbahn angeordnet sind (z. B. Küvettenrotoren), noch einsetzen lässt, führt bei der für Mikrotiterplatten charakteristischen matrixförmigen Anordnung zu erheblichen Temperaturgradienten zwischen zentralen und peripheren Proben. Darüber hinaus wird die Zieltemperatur nur relativ langsam erreicht. Selbst unter optimalen Bedingungen sind mindestens 5–10 min notwendig. Daher ist der Einsatz der Technik für schnelle kinetische Reaktionen problematisch. Um eine weitgehend homogene Temperaturverteilung zu erreichen, wurde die Verwendung eines sogenannten Temperaturübertragungskörpers vorgeschlagen (DE 34 41 179). Er besteht aus gut wärmeleitendem Material und besitzt Aussparungen zur Aufnahme von Mikroküvetten oder einer kompletten Mikrotiterplatte. Infolge der indirekten Beheizung dieses Körpers durch Auflegen auf eine gleichmäßig thermostasierte Temperaturinstellplatte, ist der Zeitraum bis zum Erreichen der Solltemperatur immer noch relativ groß. Ein anderer Vorschlag (DE 39 41 168) geht von einer elektrisch beheizten Keramikplatte mit integriertem Temperaturmeßfühler aus, die die Wärme über einen blechförmigen Körper mit Fortsätzen, die zwischen die einzelnen Mikroküvetten von Mikrotiterplatten hineinragen, auf die Proben überträgt. Da die genannten Fortsätze die Mikroküvetten nicht vollständig umschließen, ist trotz des hohen technologischen Aufwandes auch bei dieser Konstruktion die Wärmeübertragung und damit die Aufheizzeit und Temperaturhomogenität nicht optimal.

Aufgabe der Erfindung ist, die Schaffung einer einfach gebauten temperierbaren Multiküvette, die die oben genannten Forderungen bezüglich der thermischen Präzision, insbesondere bei enzymatischen Analysen erfüllt.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe dadurch gelöst, daß ein aus gut wärmeleitendem Material bestehender temperierbarer stabiler Träger mit integrierter geregelter Heizung mit durchgängigen Löchern versehen ist, deren Wandungen Einweg-Mikroküvetten aus gegenüber dem Untersuchungsgut inertem Material fest anliegend umschließen.

Als Material für den Träger kommen gut wärmeleitende Metalle oder spezielle Kunststoffe in Frage. Unter den Metallen hat Aluminium den Vorteil, daß durch Eloxieren eine dünne, elektrisch isolierende Schicht erzeugt werden kann, auf die eine Widerstandsheizleiterstruktur aufgebracht werden kann, die eine unmittelbare Beheizung des Trägers realisiert. Ein weiterer Vorteil dieser Lösung ist, die einfache Möglichkeit der Anpassung des elektrischen Widerstands an den jeweiligen lokalen Wärmebedarf, der bei matrixförmiger Anordnung der Mikroküvetten am Rand etwas höher ist. Lassen die Platzverhältnisse im Meßgerät eine effektive thermische Isolation des äußeren Umfangs des Trägers zu, verschwinden diese Unterschiede weitgehend. Wird der Träger aus zwei miteinander verklebten eloxierten Aluminiumplatten aufgebaut, zwischen denen sich in der dünnen Klebstofflage der Widerstandsheizleiter befindet, sind sowohl eine gute Wärmeübertragung als auch ein effektiver mechanischer Schutz des Heizleiters gewährleistet.

Der Stromfluß durch den Heizleiter wird in Abhängigkeit von Größe und differenzieller Änderung von Temperaturmeßwerten geregelt, die ein Meßfühler liefert, der so in der Wandung eines der Löcher befestigt ist, daß ein guter thermischer Kontakt zur Wandung der eingesetzten Mikroküvette, nicht aber zum Träger besteht.

Vorteilhaft wird der Träger von einem Rahmen aus thermisch und elektrisch isolierendem Material umgeben, der drei Funktionen erfüllt: er verbessert die thermischen Eigenschaften der Multiküvette, trägt die elektrischen Kontakte zur Verbindung mit Meßverstärker und Stromquelle und schützt die in den Rahmen eingeschäumten Verbindungsleitung zwischen diesen Kontakten und den elektrischen Bauelementen.

In die durchgehenden Löcher des Trägers werden formschlüssig Einweg-Mikroküvetten eingesetzt, die ganz oder teilweise aus optischem Material bestehen. Da die Stabilität der erfindungsgemäßen Multiküvette durch den Träger gewährleistet wird, ist im Interesse einer verbesserten Wärmeübertragung die Wandstärke dieser Küvetten reduziert.

Zeitsparend lassen sich die Mikroküvetten im Träger auswechseln, wenn sie so zu Sätzen zusammengefaßt sind, daß ihre Anordnung mit der der Löcher des Trägers übereinstimmt. Das kann durch dünne Stege erfolgen. Eine zweite Möglichkeit ist die Befestigung der einzelnen Mikroküvetten auf einer selbstklebenden Folie, die gleichzeitig deren Lumen vor unerwünschter Kontamination schützt. Bei der Nutzung von Mikroküvetten, die auf eine der beschriebenen Arten zu Sätzen zusammengefaßt sind, ist auch jederzeit die Abtrennung und Verwendung von Teilmengen möglich. Im ersten Fall werden dazu einzelne Stege zerbrochen, im zweiten Fall wird die verbindende Folie zertrennt.

Die beste Wärmeübertragung zu den Proben wird erreicht, wenn die Löcher des Trägers vor Gebrauch durch thermoplastische Verformung einer glasklaren Folie ausgekleidet und dabei gleichzeitig mit einem optischen Boden versehen werden. Wird der Träger nach Gebrauch bis zum Erweichungspunkt dieser Folie erhitzt, kommt es zur Lösung der formschlüssigen Verbindung zwischen Folie und Träger, so daß eine problemlose Entnahme möglich ist.

Im folgenden wird die Erfindung an Hand von Ausführungsbeispielen näher erläutert.

Es zeigen:

Fig. 1: Aufsicht auf die teilweise aufgeschnittene tem-

perierbare Multiküvette;

**Fig. 2:** Querschnitt durch zwei Löcher des Trägers mit eingesetzter Einweg-Mikroküvette;

**Fig. 3:** Satz von Einweg-Mikroküvetten, verbunden durch selbstklebende Folie;

**Fig. 4:** Schematische Darstellung des Arbeitsablaufs bei der Verwendung von Mikroküvetten aus thermoplastischer glasklarer Folie;

**Fig. 5:** Temperatur-Zeit-Diagramm der temperierbaren Multiküvette während des Aufheizens und nach Erreichen der Zieltemperatur.

Fig. 1 zeigt die Multiküvette ohne Mikroküvetten. Der Träger 1 besteht aus einer unteren eloxierten Aluminium-Platte 2 und einer oberen eloxierten Aluminium-Platte 3, die miteinander verklebt sind. Im Träger 1 befinden sich 96 durchgängige Löcher 4, die im 8·12-Raster mit einem gegenseitigen Abstand von 9 mm angeordnet sind. Der Rand des Trägers 1 weist aus Gründen der thermischen Symmetrie im gleichen Raster angeordnete halbkreisförmige Aussparungen auf, die gleichzeitig zu einer stabilen Verbindung mit dem aus Polyurethanhartschaum gefertigtem Rahmen 5 beitragen. In der Klebefuge zwischen den Aluminiumplatten befindet sich der Heizleiter aus Kupferfolie 6, der in der Figur durch eine Teilschnittdarstellung sichtbar gemacht wurde. Seine Enden sind durch im Rahmen 5 eingegossene Kabel 7 mit den Stromkontakte 8 der Anschlußleiste 9 verbunden.

In der Wand eines Loches ist ein Temperatur-Meßfühler 10 so eingesetzt, daß er im wesentlichen die Temperatur an der Wandung der Mikroküvette 12 mißt. Der elektrische Anschluß des Meßfühlers 10 an den zugehörigen Verstärker erfolgt in Vierleitertechnik, so daß die Anschlußleiste 9 zusätzlich zu den beiden Stromkontakte 8 noch vier Meßfühlerkontakte 11 aufweist.

In Fig. 2 ist in der Schnittdarstellung eines Teils des Trägers 1 der Aufbau aus den beiden Platten 2 und 3 mit dem dazwischen liegenden Heizleiter 6 und die leicht konische Form der Löcher 4 zu erkennen. Die dazu paßfähigen Einweg-Mikroküvetten 12 weisen am oberen und unteren Ende jeweils einen Bund auf. Der obere Bund 13 wirkt beim Eindrücken der Mikroküvetten 12 in den Träger als begrenzender Anschlag. Am unteren Bund 14 stützt sich die zur Entfernung der Mikroküvetten 12 aus dem Träger benutzte Vorrichtung ab. Außerdem verhindert der untere Bund 14 eine unbeabsichtigte Verschmutzung der optisch wirksamen Bodenfläche der Multiküvette 12 und erhöht auf diese Weise die Zuverlässigkeit der optischen Messungen.

In Fig. 3 ist in einer Schnittdarstellung schematisch die Vereinigung mehrerer Mikroküvetten zu einem Satz durch Aufsetzen der oberen Öffnung der Küvetten auf eine selbstklebenden Folie dargestellt.

Der Arbeitsablauf bei der Verwendung von Mikroküvetten aus thermoplastischer Folie ist in Fig. 4 schematisch veranschaulicht. Ein Zuschnitt aus thermoplastischer glasklarer Folie 15 wird erwärmt und in einer nicht dargestellten Vorrichtung auf dem Träger 1 liegend durch Überdruck in dessen Löcher 4 gepreßt. Es kommt zu einer formschlüssigen Verbindung, die im Anschluß an die Benutzung durch Erwärmen des Trägers 1 auf die Fließtemperatur der Folie 15 wieder aufgehoben wird, so daß die Folie 15 dann leicht herausgehoben und entsorgt werden kann.

Aus dem in Fig. 4 dargestellten zeitlichen Verlauf der Temperatur des Trägers 1 und der Probenflüssigkeit in den Multiküvetten 12 ist zu erkennen, daß letztere in weniger als 2 Minuten die Temperatur des Trägers 1,

d. h. die Zieltemperatur erreicht hat und beide Temperaturen anschließend  $< 0,1^\circ\text{C}$  um diesen Wert schwanken.

#### Bezugszeichen

5	1 Träger
	2 Untere Aluminiumplatte
	3 Obere Aluminiumplatte
	4 Löcher
10	5 Rahmen
	6 Heizleiter
	7 Stromkabel
	8 Stromkonstante
	9 Anschlußleiste
15	10 Meßfühler
	11 Meßkontakte
	12 Mikroküvette
	13 Oberer Bund
	14 Unterer Bund
20	15 Thermoplastische glasklare Folie
	16 Selbstklebende Folie

#### Patentansprüche

1. Temperierbare Multiküvette zur Untersuchung von flüssigem Untersuchungsgut mit optischen Methoden gekennzeichnet dadurch, daß

- ein aus gut wärmeleitendem Material bestehender temperierbarer stabiler Träger (1)
- mit integrierter Heizung (2), der
- mindestens einen Temperaturmeßfühler (10) trägt und
- der partiell von gut wärmedämmendem Material (5) umgeben ist,
- mit durchgängigen Löchern (4) versehen ist, wobei letztere
- auswechselbare Einweg-Mikroküvetten (12) aus gegenüber dem Untersuchungsgut inertem Material fest anliegend umschließen.

2. Temperierbare Multiküvette nach Anspruch 1, gekennzeichnet dadurch, daß in der Wandung mindestens eines Loches (4) des Trägers (1) ein Temperaturmeßfühler (10) thermisch isoliert so eingesetzt ist, daß er die Wandung der eingesetzten Mikroküvette berührt.

3. Temperierbare Multiküvette nach Anspruch 1, gekennzeichnet dadurch, daß der Träger (1) aus zumindest einer Aluminiumplatte mit zumindest einer eloxierten Oberfläche besteht, die ihrerseits eine elektrisch leitende Schicht trägt, die so strukturiert ist, daß ein geschlossener Heizleiterzug (6) entsteht, der im Betriebszustand über lösbare Stromkontakte (8) mit einer regelbaren Stromquelle verbunden ist.

4. Temperierbare Multiküvette nach Anspruch 3, gekennzeichnet dadurch, daß der Träger (1) aus einer unteren Platte (2) und einer oberen Platte (3), vorzugsweise aus eloxiertem Aluminium besteht und auf mindestens eine Plattenoberfläche ein Heizleiterzug aufgebracht ist.

5. Temperierbare Multiküvette nach Ansprüchen 3 oder 4, gekennzeichnet dadurch, daß im Randbereich des Trägers (1) die Wärmeleistung der Heizleiterzüge (6) pro Flächeneinheit größer ist.

6. Temperierbare Multiküvette nach Anspruch 1, gekennzeichnet dadurch, daß in die durchgehenden Löcher (4) des Trägers (1) paßfähige dünnwandige Einweg-Mikroküvetten (12), die ganz oder teilweise

se aus optischem Material bestehen, eingedrückt werden.

7. Temperierbare Multiküvette nach Anspruch 6, gekennzeichnet dadurch, daß die einzelnen Mikroküvetten (12) durch Stege (3) zu Sätzen zusammengefaßt sind. 5

8. Temperierbare Multiküvette nach Anspruch 6, gekennzeichnet dadurch, daß die Zusammenfassung der Mikroküvetten (12) zu Sätzen durch eine selbstklebende elastische Folie (16) realisiert ist, die 10 die Öffnungen der Einweg-Mikroküvetten (12) so überdeckt, daß deren Lumen während des Transports und der Lagerung hermetisch verschlossen ist.

9. Temperierbare Multiküvette nach Anspruch 1, 15 gekennzeichnet dadurch, daß die Mikroküvetten (12) jeweils vor Gebrauch durch Einpressen einer thermoplastischen glasklaren Folie (15) in die durchgängigen Löcher (4) des Trägers (1) hergestellt sind. 20

10. Temperierbare Multiküvette nach Anspruch 9, gekennzeichnet dadurch, daß die Lösung der thermoplastischen glasklaren Folie (15) aus den Löchern (4) des Trägers (1) durch dessen Erwärmung über den für die Temperierung des Untersuchungs- 25 gutes üblichen Bereich hinaus erfolgt.

---

Hierzu 5 Seite(n) Zeichnungen

30

35

40

45

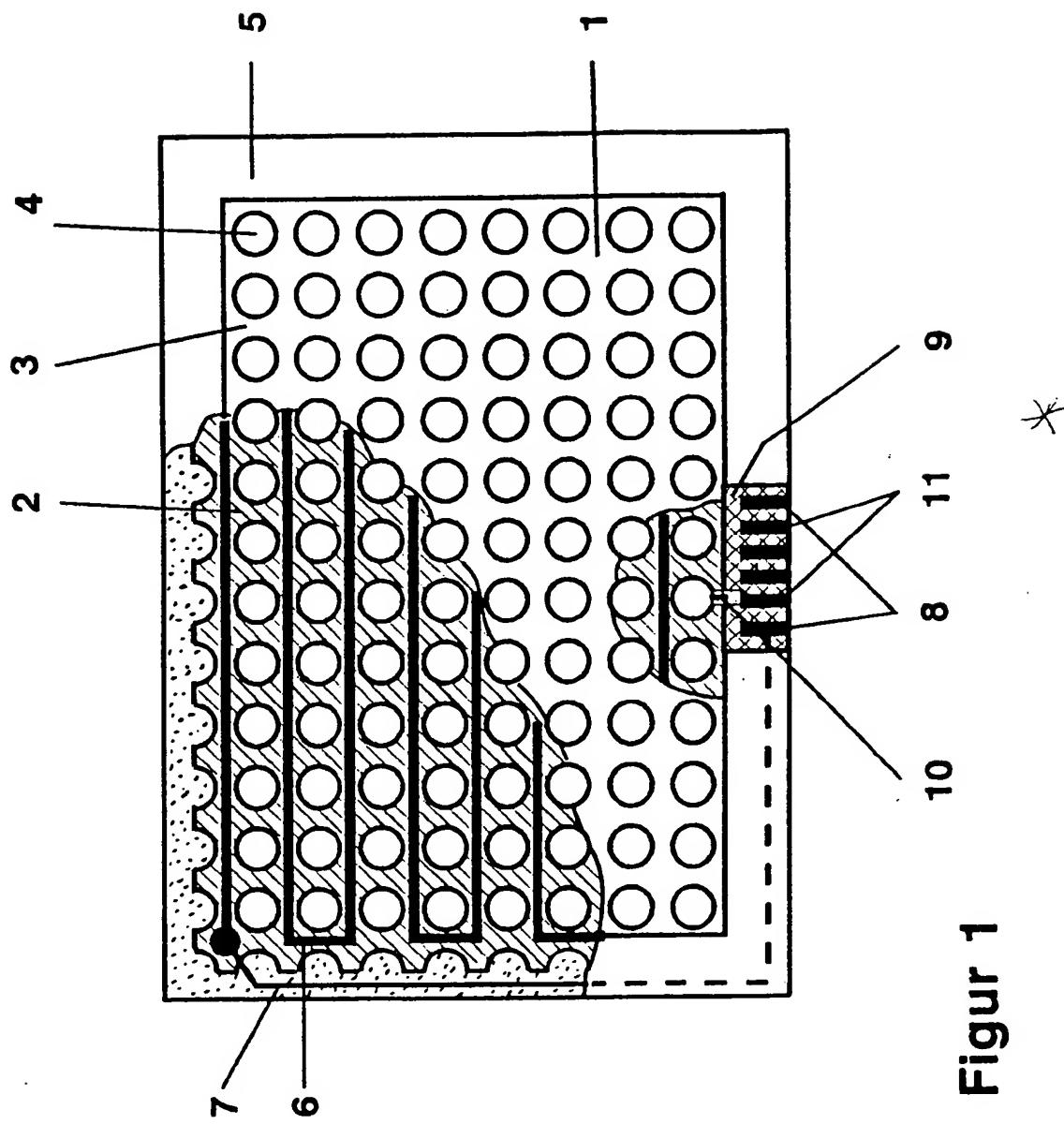
50

55

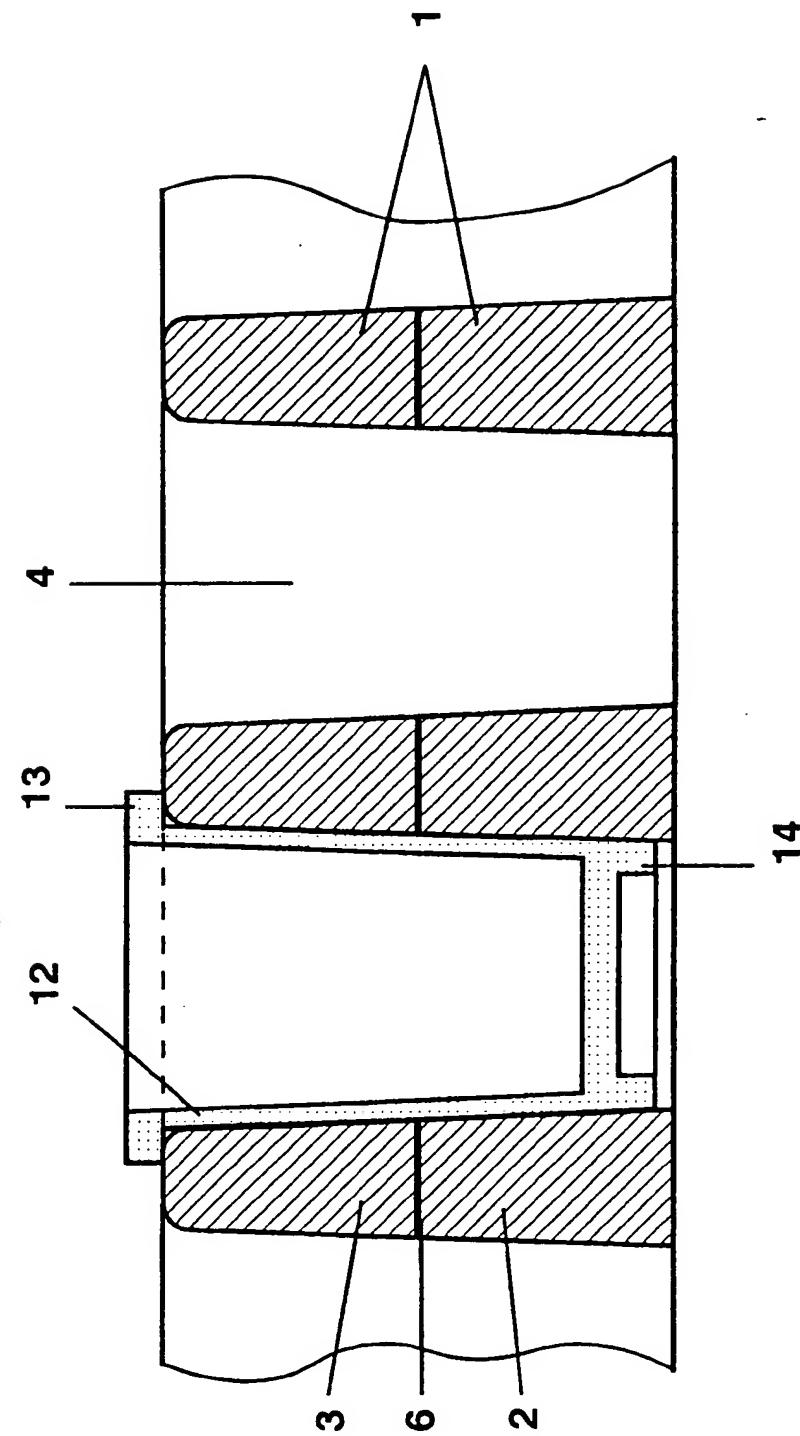
60

65

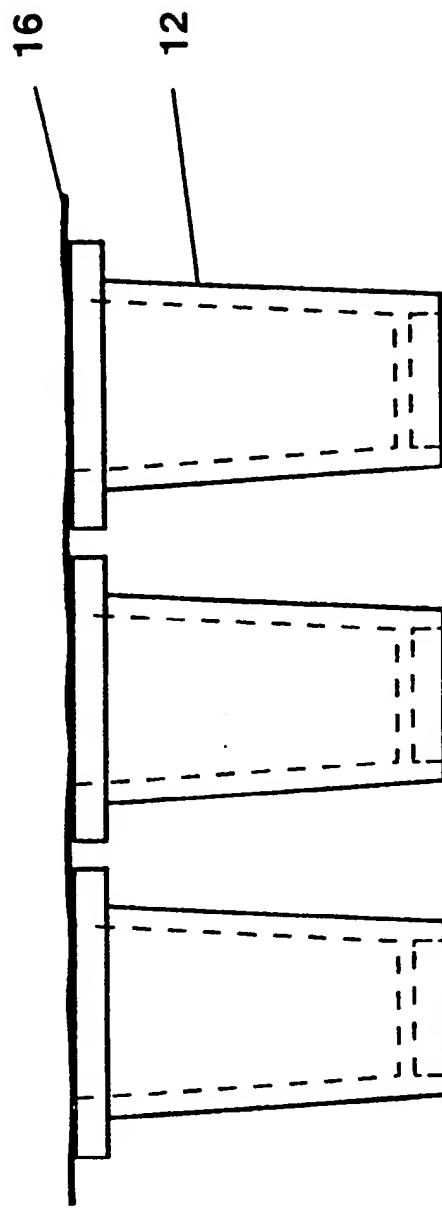
- Leerseite -



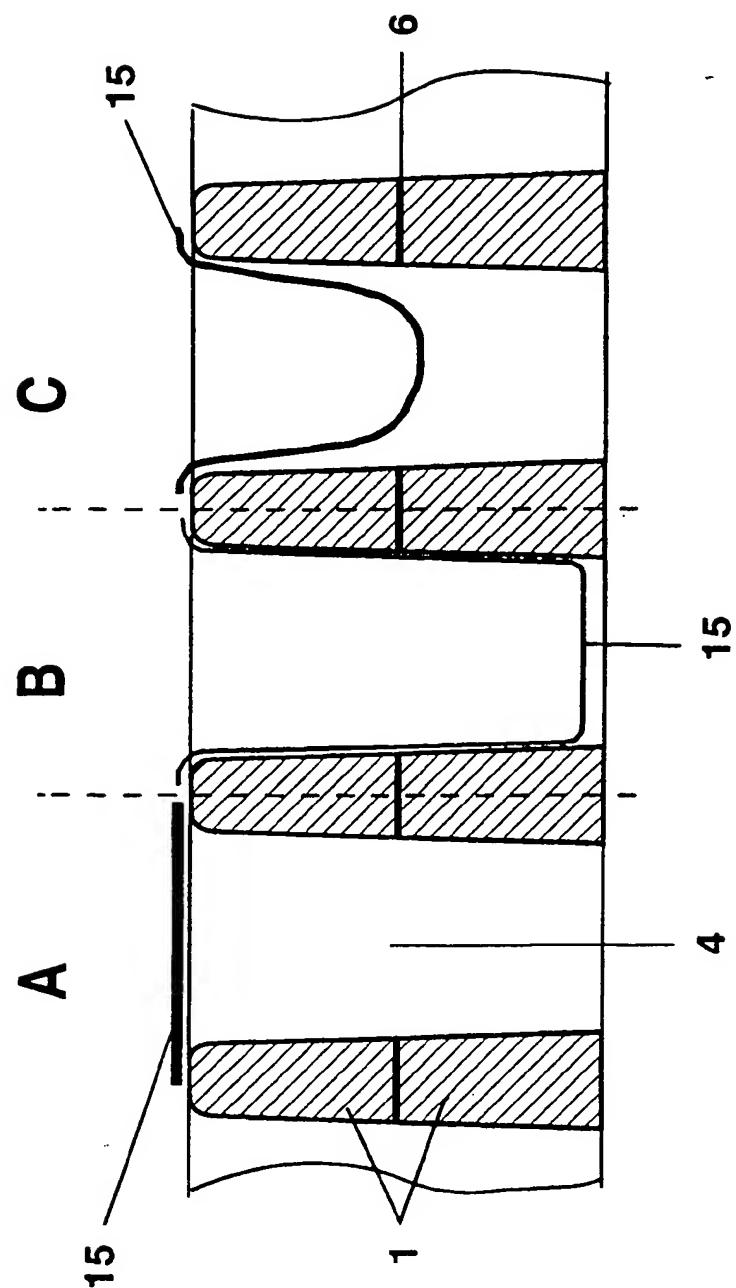
Figur 1



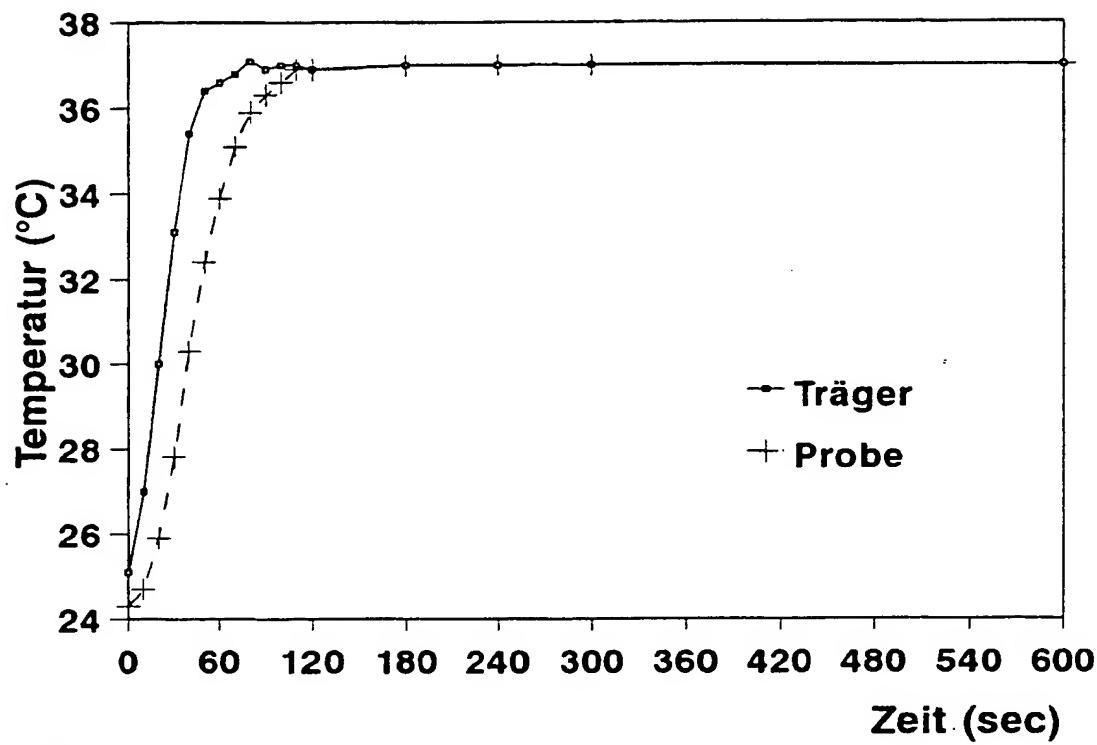
Figur 2



Figur 3



Figur 4

**Figur 5**